

# CARACTERIZACIÓN DE FITOPATÓGENOS Y EVALUACIÓN DE BIOCONTROLES EN AJÍ TABASCO *CAPSICUM FRUTESCENS* (SOLANACEAE) EN ROZO, VALLE

**Gustavo Adolfo Rodriguez Salazar**

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: gustavo.rodriguez.salazar@correounivalle.edu.co

**Celina Torres González**

Universidad del Valle, Apartado Aereo 25360, Cali, Colombia.

correo electrónico: celina.torres@correounivalle.edu.co

## RESUMEN

*Capsicum frutescens* es un arbusto perteneciente a la familia *Solanaceae*, de gran importancia alimenticia, industrial y medicinal debido a la capsaicina, metabolito de gran potencial para el tratamiento contra el cáncer. Ésta planta presenta problemas fitosanitarios causados por hongos, con síntomas específicos de manchas cloróticas que se controlan generalmente con agentes químicos. Se tomaron muestras de hojas de ají Tabasco de la localidad de Rozo, y fueron procesadas y sembradas en papa-dextrosa-agar (PDA). De los microorganismos aislados y purificados en diferentes medios de cultivo (PDA, agar avena y agar V8), se identificaron *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis*, *Alternaria solani*, dos morfoespecies de *Colletotrichum gloeosporioides*, dos morfoespecies de *Rhizoctonia solani* y dos morfoespecies de *Cercospora* sp. Se realizaron pruebas de patogenicidad en hojas con heridas donde se inocularon fragmentos de micelio, lo que permitió validar que los hongos aislados eran causantes de lesiones foliares. Se evaluó la eficiencia de inhibición de tres dosis (dosis recomendada, dosis media y dosis doble) de un producto comercial biológico a base de esporas de *Bacillus subtilis* comparado con un fungicida (Mancozeb). El mejor rendimiento del producto biológico se obtuvo al doble de la dosis recomendada. Las dos morfoespecies de *Cercospora*, *Alternaria solani* y *Rhizoctonia solani* morfo 2 mostraron mayor susceptibilidad ante el insumo biológico; *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata* no presentaron diferencias entre el fungicida y el producto biológico, lo que evidencio a *B. subtilis* como un tratamiento eficiente para el control de enfermedades en ají tabasco.

*Palabras clave:* antagonismo, *Bacillus subtilis*, *Capsicum frutescens*, Mancozeb.

## ABSTRACT

*Capsicum frutescens* is a bush belonging to the *Solanaceae* family, with great food, industrial and medical importance due to capsaicin, a metabolite of great potential for cancer treatment. This plant has phytosanitary problems caused by fungi, with specific symptoms of chlorotic spots which are usually controlled with chemical agents. Tabasco chili pepper's leaf samples were taken from the Rozo village, and were processed and plated on potato dextrose agar (PDA). From the microorganisms isolated and purified in different culture media (PDA, oatmeal agar and V8 agar), *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, two morphospecies of *Rhizoctonia solani* and two *Cercospora* sp. morphospecies, were identified. Pathogenicity tests were performed on leaves with wounds which were inoculated with mycelial fragments, allowing to validate that fungal isolates were the foliar lesions cause. Inhibition efficiency of

three doses (recommended dose, half-dose and double dose) of a biological commercial product based on *Bacillus subtilis* spores was evaluated and compared to a fungicide (Mancozeb). The best performance of the biological product was obtained at twice the recommended dose. The two *Cercospora*'s morphospecies, *Alternaria solani* and *Rhizoctonia solani* morpho-2, showed greater susceptibility to the bio-input; *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria alternata* showed no difference between the fungicide and the biological product, what pointed out *B. subtilis* as an effective treatment for the control of Tabasco pepper diseases.

*Key words: antagonism, Bacillus subtilis, Capsicum frutescens, Mancozeb.*

## INTRODUCCIÓN

*Capsicum frutescens* es un arbusto de la familia *Solanaceae*, que presenta un crecimiento hasta de dos metros de longitud, originario de las regiones tropicales y subtropicales de América; sus usos se remontan a poblaciones indígenas de estas áreas, con reportes que datan de más de 7000 años. Actualmente es un cultivo pantropical, encontrándose también en Asia y África. Su fruto es una baya color verde que cambia a amarillo, naranja o rojo brillante al madurar, es de importancia comercial por ser usado en la dieta de muchos países, además de ser utilizado en la obtención de colorantes, oleorresinas e insecticidas biológicos (Fonnegra & Jiménez 2007). También presenta usos medicinales debido a la producción de compuestos que combaten la atonía gastrointestinal y diarrea, otro uso médico es el metabolito secundario que produce el fruto denominado capsaicina, el cual es analgésico. Estudios recientes demuestran que este compuesto induce la apoptosis en varias células cancerígenas incluidas piel, leucemia, colon, vejiga, hígado, mama y próstata (Chow *et al.* 2007). Estas últimas propiedades convierten a *C. frutescens* como una planta de gran uso para el hombre, no solo desde el punto de vista alimentario, sino también con un gran potencial médico.

En esta investigación se trabajó con la variedad Tabasco que es susceptible a

enfermedades generalmente causadas por hongos y el grueso de sus estudios se encuentra en los países con mayor producción de ají. Estudios realizados en Aguascalientes y Zacatecas (México) muestran la presencia de enfermedades endémicas y emergentes que tienen efecto desde el desarrollo de la plántula, hasta un estado maduro en el que se producen frutos, con altos porcentajes de mortalidad en el caso de pudrición de la raíz, con un 90 % a nivel parcelario, mientras que en otras enfermedades no existe una estimación sobre las pérdidas directas o indirectas causadas a la planta. La pudrición de la raíz se caracteriza por síntomas como marchitez, clorosis, defoliación, pérdida de estructuras reproductivas, necrosis de raíces, entre otras, y ha sido asociada a un complejo de microorganismos entre los que destacan *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. y *Verticillium* spp., los cuales pueden presentarse individualmente o en combinación en una misma planta (Velásquez & Medina 2003; citado por Velásquez-Valle & Amador). La mayoría de estos patógenos producen estructuras de resistencia (esclerocios, oosporas o clamidiosporas) lo que asegura su supervivencia en el suelo por periodos prolongados.

En la fase de plántula según Velásquez (1991) citado por Velásquez-Valle & Amador (2007), el 75 % de los productores consideraron al *damping-off* como el problema principal en esta fase de desarrollo, causada por *Fusarium*

spp. y *Rhizoctonia* spp., aunque también se detectó *Alternaria* en follaje con síntoma de tizón foliar; estos hongos han sido reportados como responsables de la enfermedad a nivel mundial según Black *et al.* (1991) y Goldberg (1995) citado por Velásquez-Valle & Amador (2007).

Otra enfermedad reportada en los estados mencionados es la Cenilla polvorienta, causada por *Oidiopsis* spp. (tel. *Leveillula taurica*), la cual también ha sido reportado en diversos países del mundo, no solo como patógeno del género *Capsicum*, sino también en otros géneros y familias de plantas. Este hongo fue reportado recientemente como nuevo patógeno de *C. frutescens* para Argentina, en la provincia de Mendoza por Soto & Lucero 2004. Además de los hongos fitopatógenos descritos anteriormente, también se ha reportado a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium rolfsii* como agentes causales de enfermedades en México (Guigón & Gonzáles 2001).

En los últimos años, Colombia ha incrementado las áreas sembradas con esta especie por ser promisoría para exportación, pero donde se han establecido los cultivos se han presentado problemas fitosanitarios, en gran medida por las condiciones climáticas de la región que permite la proliferación de estos. Estudios realizados en la vereda Villanueva municipio de Popayán por Flor *et al.* (2007), demostraron que la presencia de enfermedades varía de acuerdo a la variedad de ají y el uso de agroquímicos ayudo de cierta manera al control de enfermedades. Por su parte Toro (1999) en un estudio fitosanitario en tres localidades de Colombia: Santuario y Cerritos (Risaralda), Quimbaya (Quindío) y Caicedonia (Valle del Cauca), reportó la presencia de enfermedades fungosas como antracnosis, causada por *Colletotrichum capsici*; mancha de las hojas (*Cercospora capsici*); Quemazón o Añublo (*Phytophthora*

*capsici*); Pudrición y marchitamiento (*Fusarium* sp.); *Damping-off* o Mal del Talluelo (*Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani*); Mildeo polvoso (*Leveillula taurica*) y la mancha foliar grisácea causada por *Stemphylium solani*.

Otro problema, pero ya relacionado con el manejo convencional que se le da al tratamiento de las enfermedades, curativo o preventivo, es el uso de agroquímicos que pueden degradar el suelo y ser una fuente importante de contaminación no solo para el ambiente si no para el hombre por los grados de toxicidad que estos presentan, lo que hace prioritario la búsqueda alternativa de controles biológicos que sean amigables con el ambiente, y pueden ayudar a la regeneración del suelo.

En esta investigación se evaluaron e identificaron hongos presentes en lesiones de follaje de *Capsicum frutescens* en la localidad de Rozo, Valle del Cauca y se probó si la utilización de bioinsumos presentaban un control eficiente ante dichos hongos comparado con fungicidas usados generalmente.

## MÉTODOS

### Recolección y Procesamiento de Muestras

El trabajo en campo se llevó a cabo en la finca Álvaro Cuero, vereda Chambala, corregimiento de Rozo, Valle del Cauca, con altitud de 974 m.s.n.m. Se realizó un muestreo sistemático en zigzag en el centro del cultivo, donde se tomaron muestras de hojas que presentaron manchas típicas de lesiones causadas por fitopatógenos fúngicos, se descartó aquellas que fueran aparentemente producto de estrés fisiológico de un cultivo de 45 días de edad.

Las muestras se procesaron en el Laboratorio

de Investigaciones Microbiológicas (LIM) del Departamento de Biología de la Universidad del Valle. Las hojas tomadas se lavaron con agua destilada estéril durante treinta segundos, luego se desinfestaron con hipoclorito al 1 % durante un minuto. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada estéril por un minuto y secaron en papel absorbente estéril para después ser sembradas en agar PDA; pasados cuatro días y con la evidencia de crecimiento, se procedió al aislamiento, caracterización e identificación mediante claves dicotómicas de Barnett & Hunter (1999) y Watanabe (1999). Para garantizar la esporulación de los microorganismos fúngicos aislados, estos fueron sembrados en PDA, agar avena y agar V8.

### Pruebas de patogenicidad

Se comprobó la condición fitopatógena de los microorganismos identificados y que además fueran reportados en la literatura como agentes causantes de lesiones en ají; para esto se utilizaron hojas que previamente se desinfestaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1 % durante un minuto y lavadas con agua destilada estéril, sobre estas se realizaron heridas y se depositó un disco de 0,8 cm de micelio. Las hojas inoculadas se colocaron en cámaras húmedas que consistían en una caja petri con papel absorbente humedecido con agua destilada estéril, estas cajas se incubaron a temperatura ambiente.

### Pruebas de antagonismos

Se evaluó el efecto inhibitorio de dos productos biológicos, el primero consiste en una solución de esporas de *Trichoderma harzianum* a  $1 \times 10^6$  ufc/g y el segundo en una solución de esporas de *Bacillus subtilis* a  $2 \times 10^8$  ufc/g. Para cada tratamiento se utilizaron tres dosis: recomendada por el fabricante del producto, que consistía para una caja de Petri de 9 cm de diámetro una dosis de 0.000315 g para la solución de *T. harzianum* y 0.000126

g para la solución de *B. subtilis*; la mitad de la dosis que para *T. harzianum* fue de 0.000157 g y 0.000063 g para *B. subtilis*; el doble de la dosis que para *T. harzianum* fue de 0.00063 g y 0.000252 g para *B. subtilis*. En cada tratamiento se emplearon tres replicas y un blanco en donde no se empleaban los productos biológicos, todos estos sembrados en PDA e incubados a 28°C. Se realizó una comparación con un fungicida de principio activo Mancozeb para determinar la eficacia de los productos biológicos ante productos químicos convencionales usados para el control de hongos en cultivos, se empleó una concentración de 0,001279 g que corresponde a la recomendada por el fabricante del producto. Se midió el porcentaje de inhibición de crecimiento (PIC) mediante la ecuación:

$$PIC = \frac{\text{Crecimiento blanco} - \text{Crecimiento tratamiento}}{\text{Crecimiento blanco}} * 100$$

Se tuvo en cuenta el área de crecimiento del hongo, la cual fue calculada a través del software de análisis de imágenes ImageJ, desarrollado por el RSB y el NIMH; el cual a través de una fotografía con una escala métrica, usado en este caso un metro se pudo calcular el área del hongo. Las mediciones se realizaron a los tres, siete y catorce días, en donde se tomaba en cuenta para la comparación la medida donde el blanco presentara el máximo crecimiento.

Se realizó un análisis de varianza ANOVA multifactorial, con dos factores (dosis del producto y especies); al determinar cuál dosis presentaba mejor rendimiento, se comparó esta con el fungicida mediante un análisis de varianza.

## RESULTADOS

Se encontraron tres patrones de manchas en el limbo de las hojas (tabla 1), la distribución de éstas se hallaba cercana a las nervaduras secundarias.

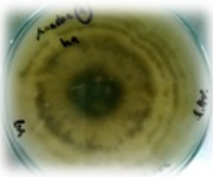
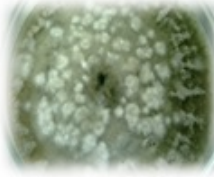
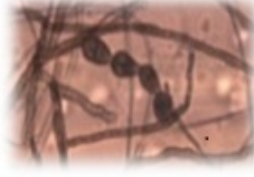



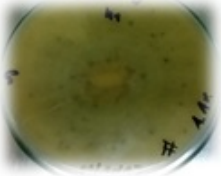
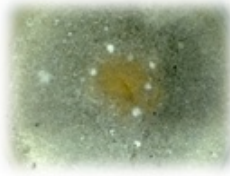
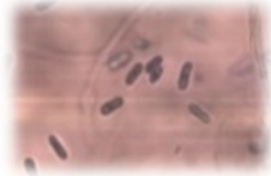


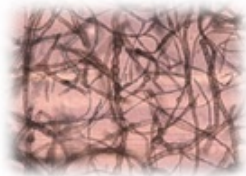
**Tabla 1.** Descripción de sintomatología en hojas de plántulas de Ají tabasco con 45 días de edad, en donde se observan tres patrones de manchas cerca de las nervaduras secundarias.

Muestra	Sintomatología
	<p>Manchas claras de borde definido, presentan halo oscuro en su interior con centro claro</p>
	<p>Mancha marrón de borde irregular con centro y halo claro alrededor distribuida en el limbo de la hoja</p>
	<p>Manchas cremas a blancas con borde definido y halo claro alrededor, se encuentra en toda la hoja</p>

Del primer patrón de manchas descrito se aislaron dos hongos del género *Alternaria* (*Alternaria alternata* y *Alternaria tenuis*) y una morfoespecie de *Colletotrichum gloeosporioides*. En el segunda patrón se encontraron dos morfoespecies de



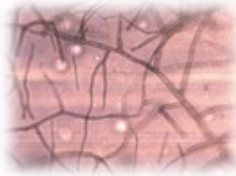
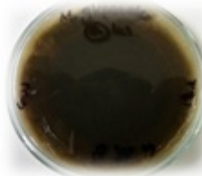


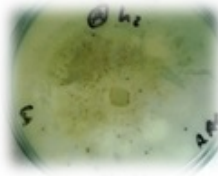

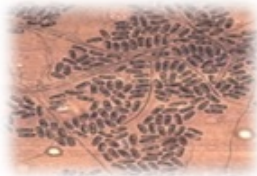
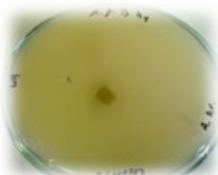

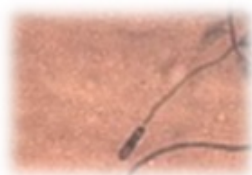


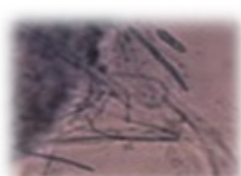
*Rhizoctonia solani*. Del tercer patrón se hallaron cuatro hongos, *Alternaria solani*, dos morfoespecies de *Cercospora* sp. y una morfoespecie de *Colletotrichum gloeosporioides* (tabla 2).

**Tabla 2.** Descripción de hongos aislados e identificados en follaje de Ají Tabasco.

Patógeno	Descripción Macro		Descripción Micro
<i>Alternaria alternata</i>			
	Radial habano con círculos oscuros al madurar	Afelpado habano, al madurar se torna blanco	Conidias catenuladas color marrón con septos
<i>Alternaria tenuis</i>			
	Liso oscuro	Afelpado marrón que al madurar se torna un marrón más claro	Conidias catenuladas acropetalas color marrón, con septos longitudinales y transversales
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> morfo 1			
	Radial amarillo, en el centro naranja, reflejo del anverso	Granular de micelio blanco que se oscurece al madurar y esporas naranja	Hifas hialinas con conidias hialinas libres
<i>Rhizoctonia solani</i> morfo 1			
	Liso oscuro	Afelpado color negro, con centro gris	Sin presencia de conidias, hifas septadas marrón con estrechamiento basal en hifas ramificadas, células monoloides formadas






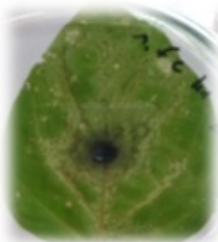
Continuación tabla 2

Patógeno	Descripción Macro		Descripción Micro
<i>Rhizoctonia solani</i> morfo 2	 Liso oscuro	 Afelpado marrón oscuro, con centro marrón claro	 Sin presencia de conidias, hifas septadas marrón con estrechamiento basal en hifas ramificadas
<i>Alternaria solani</i>	 Liso con formación de un radio hacia el borde, marrón oscuro	 Afelpado marrón claro formando un radio hacia el borde	 Conidias marrón catenuladas
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> morfo 2	 Liso blanco con amarillo hacia el centro	 Afelpado blanco, con esporulación amarilla en el centro	 Conidias hialinas
<i>Cercospora</i> sp. morfo 1	 Liso habano	 Algodonoso blanco	 Conidias filiformes hialinas
<i>Cercospora</i> sp. morfo 2	 Liso blanco	 Algodonoso blanco	 Conidias filiformes hialinas

Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas para las tres especies de *Alternaria*, *Colletotrichum gloeosporioides*, las dos morfoespecies de *Rhizoctonia solani*, y *Cercospora* sp. A los quince días de evaluación presentaron severidades distintas




(tabla 3), pero en general los mismos síntomas con clorosis que se extendía por las nervaduras primaria y secundaria, con manchas similares a la sintomatología uno y tres. *Alternaria tenuis* presento mayor severidad.

**Tabla 3.** Pruebas de patogenicidad de los hongos aislados en hojas de ají.

Patógeno		Descripción
<i>Alternaria alternata</i>		Tejido necrótico en nervadura principal y secundaria, clorosis marcada en cerca de las nervaduras secundarias al igual que manchas con borde oscuro
<i>Alternaria tenuis</i>		Clorosis severa en casi toda la hoja, que va desde la base hasta el ápice, nervaduras secundarias con oscurecimiento
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		Clorosis que se extiende alrededor de las nervaduras primarias y secundarias, con mancha clara a un lado de estas
<i>Rhizoctonia solani</i> morfo 1		Clorosis sobre la nervadura secundaria con manchas cerca de estas



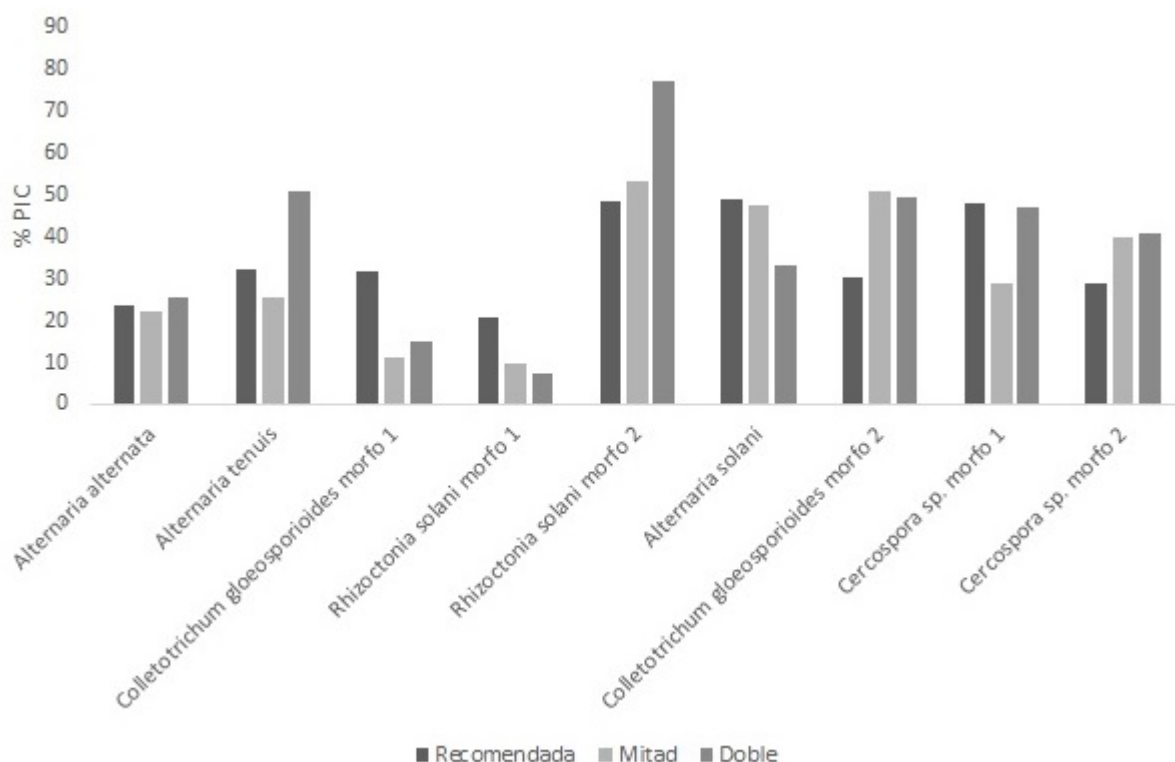
Continuación tabla 3

Patógeno	Descripción	
<i>Rhizoctonia solani</i> morfo 2		Clorosis que se extiende por nervaduras primaria, secundaria y terciaria
<i>Alternaria solani</i>		Necrosis en nervadura principal y secundarias con clorosis cerca a estas
<i>Cercospora</i> sp.		Necrosis en nervadura principal y secundarias con clorosis cerca a estas

En las pruebas de antagonismo, la solución de esporas de *Trichoderma harzianum* no presento crecimiento alguno, sin presencia de inhibición.

Para la solución de *Bacillus subtilis* cada especie aislada (tabla 2) presento patrones de PIC distintos para cada dosis de la

solucion de esporas de *B. subtilis* (figura 1) con diferencias estadísticas significativas ( $P = 0,000000$ ); los rangos de inhibición fluctuaron entre el 7,51 % y el 77,38 % aproximadamente, en donde el mayor porcentaje de inhibición se observó en *Rhizoctonia solani* morfo 2 para la dosis doble del producto.

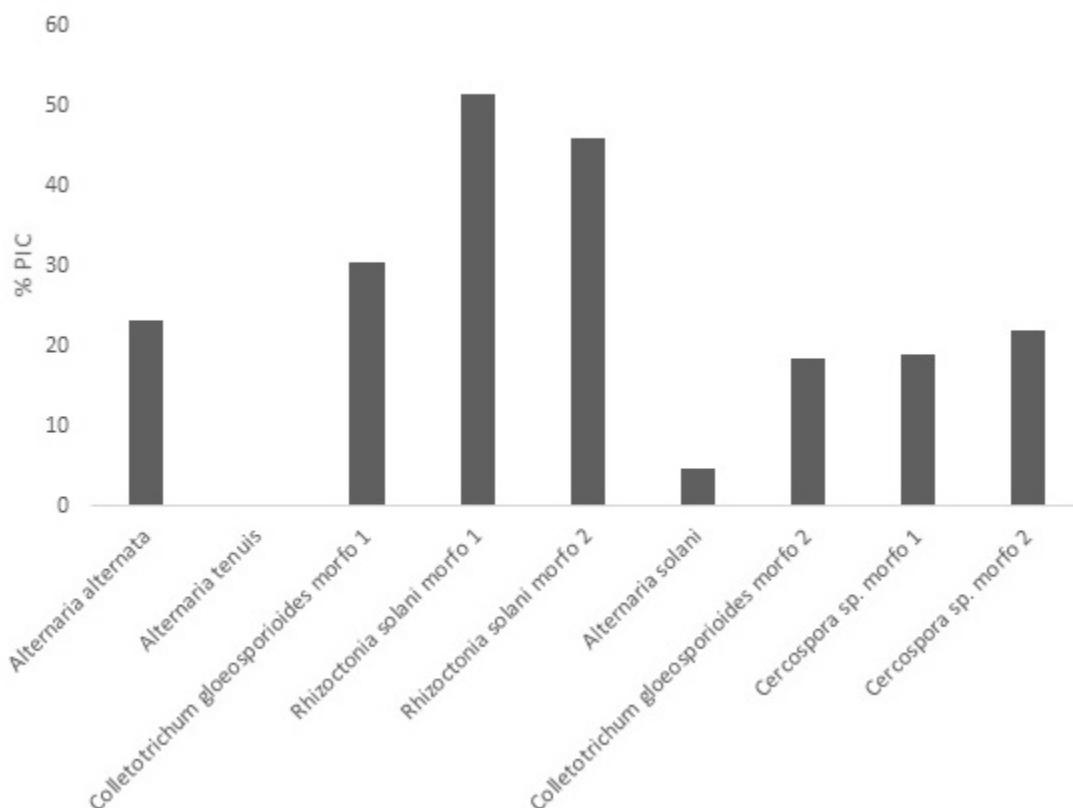


**Figura 1.** Inhibición de crecimiento causada por *Bacillus subtilis* sobre los hongos aislados, medido en porcentaje de inhibición; el mayor porcentaje se observó en la dosis doble del producto sobre *Rhizoctonia solani*, morfo 2 y el menor valor 7,5 % en la dosis doble del producto para *Rhizoctonia solani* morfo 1.

Las especies de *Alternaria alternata* y *Cercospora* sp. morfo 2, no presentaron diferencias significativas en los PIC para cada dosis con una inhibición similar. Estadísticamente, la dosis Recomendada con un valor promedio de 34,66 % de inhibición no presento diferencias significativas con respecto a la dosis media con valor de 32,16 % ( $P = 0,321493$ ) y la doble con valor de 38,51 % ( $P = 0,080467$ ), pero si se encontraron diferencias significativas entre la dosis media y la doble con valor de  $P = 0,001729$ , con un mayor porcentaje de inhibición en esta última. *Rhizoctonia solani* morfo 1 presento los menores valores de

inhibición.

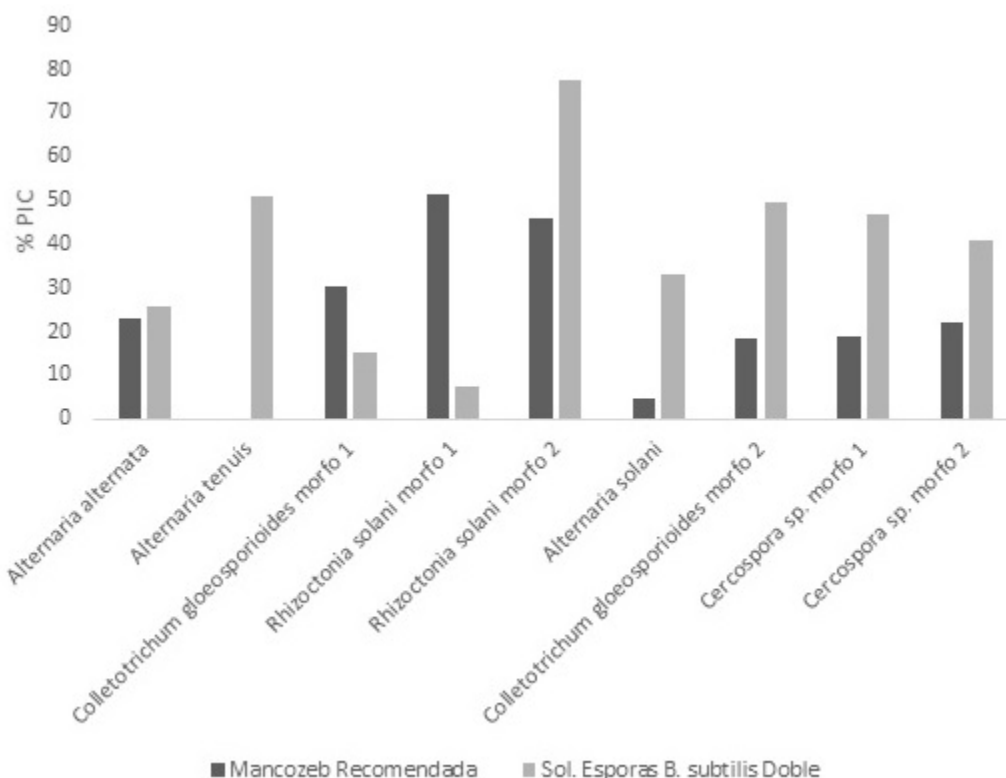
Las pruebas de antagonismo realizadas con el fungicida de principio activo Mancozeb, muestran respuestas de inhibición diferentes por cada especie con un valor de  $P = 0,000044$ . *Rhizoctonia solani* morfo 1 presento el mayor porcentaje de inhibición con un valor de 51,44 %, el de menor valor fue *Alternaria solani* con 4,76 %; *Alternaria tenuis* no presento valor PIC, debido a que el hongo no creció en el ensayo (figura 2). *Alternaria alternata*, morfo 1, *Cercospora* sp. morfo 1 y *Cercospora* sp. morfo 2 presentaron PIC semejantes sin diferencias significativas.



**Figura 2.** Efecto de Mancozeb en el porcentaje de inhibición de crecimiento en cada hongo aislado, donde *Alternaria solani* presento el valor más bajo 4,76 %, caso contrario de *Rhizoctonia solani* morfo 1 que presento el mayor valor 51,44 %.

Al contrastar el fungicida y el insumo biológico a la concentración con mejor rendimiento (doble) para el control de microhongos patógenos, *Colletotrichum gloeosporioides* morfo 2, *Cercospora* sp. morfo 1 y *Cercospora* sp. morfo 2, presentaron comportamiento similar de inhibición ante los tratamientos, en los tres casos fue mayor el porcentaje de inhibición de la solución de *B. subtilis* al doble de la dosis recomendada (figura 3); *Alternaria alternata* no presento diferencias significativas entre ambos tratamientos con valores similares de

inhibición; las dos especies de *Rhizoctonia* encontradas tuvieron patrones de inhibición distintos para cada tratamiento, para la morfoespecie uno fue más efectivo el tratamiento con el fungicida, mientras que para la morfoespecie dos fue al contrario. *Alternaria solani*, tuvo en promedio el menor valor (4,76 %) de inhibición frente a Mancozeb, por otro lado *Colletotrichum gloeosporioides* morfo 1 no presento diferencias significativas con un valor de  $P = 0,0028$ .



**Figura 3.** Efecto de Mancozeb dosis recomendada y solución de esporas de *B. subtilis* al doble de la dosis en la inhibición de crecimiento de patógenos fúngicos aislados. *B. subtilis* presenta un mayor porcentaje excepto en *Rhizoctonia solani* morfo 1, *Colletotrichum gloeosporioides* morfo 1, y *Alternaria alternata*, donde estos dos últimos no presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos.

La comparación en general del producto biológico a base de esporas de *Bacillus subtilis* presento diferencias significativas en cuanto a rendimiento comparado frente al fungicida con un valor  $P = 0,000205$ , con mayor efecto inhibitorio ante los hongos encontrados excepto en *Rhizoctonia solani*, que presento diferencias marcadas con menor susceptibilidad a *Bacillus subtilis*.

## DISCUSIÓN

Los hongos aislados pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Colletotrichum* y *Rhizoctonia* (tabla 2), son reconocidos patógenos de una gran diversidad de plantas como en el caso de las Solanáceas; el primero se caracteriza por ser uno de los causantes

de mancha foliar con presencia de necrosis, según lo indica Alejo *et al.* (2006), quien determinó una especie de este género como patógeno causante de este síntoma en plantas de chile habanero (*Capsicum chinese*) no solo en hojas, también presenta patrones de manchas en fruto. *Colletotrichum* por su parte es uno de los agentes causales de antracnosis, una enfermedad que se caracteriza por presentar diversos síntomas como manchas necróticas en hojas, frutos y yemas que conlleva a la muerte del tejido (Than *et al.* 2008). Estos síntomas fueron semejantes a los observados en campo (tabla 1) lo que indica que estos patógenos son los causantes de la enfermedad y se validó con las pruebas de patogenicidad (postulados de Koch) (tabla 3). Estos hongos presentaron manchas cloróticas

y se mostraron mucho más severas en las pruebas de patogenicidad, comparadas con los síntomas observados en el campo debido posiblemente a que la concentración de inóculo que se utilizó (disco de micelio de 0,8 cm) permitió que los patógenos se desarrollaran con mayor eficiencia en las hojas inoculadas.

En el segundo patrón de manchas se aislaron dos especies de *Rhizoctonia*, las cuales han sido reportadas como agentes causales del *damping-off* o pudrición de la planta, sin embargo en campo, sólo se observaron manchas marrón de borde irregular con centro y halo claro alrededor, esto puede deberse a que la enfermedad mencionada anteriormente está asociada a la interacción de varios hongos que conjuntamente causan la muerte de la planta (Toro 1999, Velásquez 1991 citado por Velásquez-Valle & Amador 2007). En la prueba de patogenicidad se halló que ambas morfoespecies de *Rhizoctonia solani* causaron clorosis en las hojas, pero no el mismo patrón de mancha necrótica hallada en campo, esto puede deberse a que en campo la planta también fuera parasitada por otra especie de hongo que presentara este síntoma y que no fue aislado en el laboratorio.

En el último patrón de manchas se halló *Alternaria solani* y dos morfoespecies del género *Cercospora*, conocidos como causantes de lesiones en hojas con patrones de manchas. Las pruebas de patogenicidad validaron lo anterior (tabla 3), donde *Alternaria solani* y *Cercospora* sp., presentaron síntomas de clorosis similares a las halladas en campo (tabla 1), aunque el tizón foliar se caracteriza además por la presencia de manchas marrón concéntricas con un leve halo clorótico en estadios tardíos (Tamayo & Jaramillo 2006), esto no se observó en campo ni en las pruebas de patogenicidad, lo que puede deberse a que plantas jóvenes son más resistentes ante la enfermedad causada por este hongo (Chew *et*

*al.* 2008).

Con respecto a las pruebas de antagonismo, el producto a base de esporas de *Bacillus subtilis*, mostró un amplio rango de inhibición con el doble de la dosis recomendada (0.000252 g) desde 7.51 % en *Rhizoctonia solani* morfo 1 hasta 77.39 % en *Rhizoctonia solani* morfo 2, la dosis recomendada presentó un rango de inhibición que iba de 20,74 % en *Rhizoctonia solani* morfo 1 a 48,77 % en *Alternaria solani*, por su parte la mitad de la dosis presentó un rango de 9,65 % en *Rhizoctonia solani* morfo 1 a 53,29 % en *Rhizoctonia solani* morfo 2, estas diferencias de rango de inhibición puede deberse a la viabilidad de las esporas de la bacteria. De las tres dosis, la que presentó menor rendimiento y con diferencias significativas fue la mitad de la dosis recomendada con un promedio en general de inhibición del 32 %, la dosis recomendada no presentó diferencias significativas comparada con las otras dosis, un análisis con más datos podría solucionar esta incongruencia. La dosis doble obtuvo en promedio el mejor rendimiento de inhibición cerca del 39 % y presentó más eficiencia contra *Rhizoctonia solani* morfo 2 con un porcentaje de inhibición del 77,39 % (figura 1). Liu *et al.* (2014) y Ongena & Jacques (2009) comprueban el efecto antagónico que presenta *Bacillus subtilis* ante hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia solani* debido a tres familias de polipéptidos que estos producen (surfactinas, iturinas y fengicinas) que afectan tanto a micelio como a estructuras reproductivas. Estudios realizados por Elkahoui *et al.* (2012) donde utilizó esta bacteria para antibiosis de *Rhizoctonia solani* encontraron un porcentaje de inhibición del 44 %, lo que se aproxima al valor obtenido del 48 % para la dosis recomendada del producto contra *Rhizoctonia solani* morfo 2 (figura 1), esto demuestra que este fitopatógeno es susceptible a los mecanismos de antagonismos que exhibe la bacteria donde un incremento de la dosis

presenta un mayor rendimiento dado a la cantidad de microorganismo antagonista, por su parte el *R. solani* morfo 1 presento un porcentaje menor en cuanto a inhibición (20 %), lo que evidencia resistencia de este hongo ante dichos metabolitos secundarios que producen la antibiosis, probablemente a mecanismos de resistencia en su membrana, dado a que estos metabolitos actúan sobre ella.

El fungicida de contacto de principio activo Mancozeb presentó un porcentaje de inhibición por encima del 30 % en *Colletotrichum gloeosporioides* (30,46 %), *Rhizoctonia solani* (51,44 %) y *Rhizoctonia solani* morfo 2 (45,91 %) con mayor susceptibilidad en estas dos morfoespecies ultimas; las demás especies presentaron valores cercanos al 20 % (figura 2). Mancozeb es un fungicida de contacto que afecta lípidos de membrana, interrumpe la formación de ATP en las células fúngicas e inhibe la germinación de esporas lo que permite tener un buen rendimiento en cuanto inhibición de fitopatógenos por parte de este agroquímico (Sneh /textit et al. 1996). Estudios realizados por Hussain *et al.* (2008) muestran un rendimiento del 49,21 % de inhibición para *Colletotrichum gloeosporioides* por parte de este fungicida a una contracción de 100 g/L y un 100 % de inhibición a una dosis de 300 g/L, valores más altos que los obtenidos en el presente trabajo, aunque las dosis mencionadas anteriormente son cinco y quince veces respectivamente más altas que las usadas en este estudio, lo que indica que una concentración mayor del producto presenta un mejor rendimiento. *Alternaria tenuis* no creció en este ensayo debido probablemente a problemas del micelio tomado, el cual pudo encontrarse envejecido. Las especies de *A. alternata* y *A. solani* presentaron valores bajos de inhibición, sobre todo esta última con un valor de 4,75 %, lo que contradice estudios realizados previamente por Kantwa *et al.* (2014) donde

el producto presento una eficiencia de al menos el 50,70 % para la dosis mínima usada por ellos (50 ppm). La dosis juega un papel importante debido al mecanismo de antagonismo que presenta el fungicida que se basa en el contacto.

Se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de inhibición para el fungicida químico (Mancozeb) y el biológico que mostró mayor rendimiento, excepto para *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides* que presentaron porcentajes de inhibición sin diferencias significativas para ambos productos. En general se obtuvo un mejor rendimiento de inhibición por parte del producto biológico a base de esporas de *B. subtilis* para los hongos encontrados en campo (figura 3), dado a que este microorganismos además de producir metabolitos que impiden el crecimiento del hongo, mecanismo similar al del fungicida, también compite por espacio y nutrientes lo que hace que sea un controlador más eficiente.

Los hongos encontrados en las plantas de ají tabasco son los reportados mundialmente como patógenos causantes de patrones de manchas en hojas, lo que demuestra que en la localidad de Rozo donde se tomaron las muestras hay presencia de estos organismos y que pese al uso de agroquímicos para su control estos no han sido eficientes lo que ha ocasionado lesiones en la planta, lo que hace prioritario el uso de mecanismo alternos como los bioinsumos como se mostró en el presente trabajo evidenciaron un mejor rendimiento, en este caso como mejor opción la solución de esporas de *B. subtilis* al doble de la dosis recomendada para el tratamiento preventivo y curativo de las enfermedades además de presentar una baja toxicidad en comparación con el agroquímico Mancozeb.



## AGRADECIMIENTOS

A la profesora Celina Torres por la orientación del presente trabajo y ayuda en la identificación de los fitopatógenos fúngicos, a Natalia Aristizábal por sus consejos y ayuda

en el montaje de ensayos en el laboratorio, a Alexander Mora por su asesoría en los análisis y a los miembros de Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas por brindar el espacio y equipos necesarios para el desarrollo de la investigación.

## LITERATURA CITADA

- Alejo, J.C., Zaletas, E., Tun-Suarez, J.M., Latournerie, L. and Ruiz, E. (2006). "Control químico y epidemiología de la mancha foliar del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en Yucatán, México". *Fitosanidad*, Vol. 10 No. 3, pp. 217-220.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3rd ed. Burgess publishing company. EEUU, p. 241.
- Black, L.L., Green, S.K., Hartman, G.L. and Poulos, J.M. (1991). *Pepper diseases: a field guide*. Asian Vegetable Research and Development Center (AVRDC) Publication. Taipei, p. 98.
- Chew, Y.I., Vega, A., Palomo, M. and Jimenez, F. (2008). *Principales enfermedades del chile (Capsicum annuum L.)*. Instituto Nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. México, p. 32.
- Chow, J., Norng, M., Zhang, J. and Chai, J. (2007). "TRPV6 mediates capsaicin-induced apoptosis in gastric cells-Mechanisms behind a possible new "hotcancer treatment". *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1773 No. 4, pp. 565-576.
- Elkahoui, S., Djéballi, N., Tabbene, O., Hadjbrahim, A., Mnasri, B., Mhamdi, R., Shaaban, M. and Limam, F. (2012). "Evaluation of antifungal activity from *Bacillus strains* against *Rhizoctonia solani*". *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11 No. 18, pp. 4196-4201.
- Flor, C.F., Ruíz, W.A., Tobar, J.M., Gallo, J.A. and Regifo, E. (2007). "Evaluación agronómica de ocho variedades de ají en la vereda Villanueva municipio de Popayán". *Facultad de Ciencias agropecuarias*. Vol. 5 No. 2, pp. 126-136.
- Fonnegra, R. and Jiménez, S.L. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. 2nd ed. editorial universidad de Antioquia. Medellín, Colombia, pp. 27-30.
- Goldberg, N.P. (1995). *Chile Pepper Diseases*. Agricultural Experiment Station. College of Agriculture and Home Economics. New Mexico State University. Circular 549. USA, p. 20.
- Hussain, A., Raziq, F. and Khan, H. (2008). "In vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides* with biological and chemical agents". *Sarhad Journal of Agriculture*, Vol. 1 No. 1, pp. 79-84.
- Kantwa, S.L., Tetarwal, J.P. and Shekhawat K.S. (2014). "In vitro effect of fungicides and phyto-extracts against *Alternaria alternata* causing leaf blight of groundnut". *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, Vol. 7 No. 6, pp. 28-31.
- Liu, J., Hagberg, I., Novitsky, L., Hadj-Moussa, H. and Avis, T.J. (2014). "Interaction of antimicrobial cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis* influences their effect on spore germination and membrane permeability in fungal plant pathogens". *Fungal Biology*, Vol. 30, pp. 1-7.
- Ongena, M. and Jacques, M. (2008). "*Bacillus lipopeptides*: versatile weapon for plant disease biocontrol". *Trends in Microbiology*, Vol. 16 No. 3, pp. 115-125.

- Sneh, B., Jabali-Hare, S., Neate, S. and Dijst, G. (1996). *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and disease control*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p. 581.
- Soto, J.A. and Lucero, H. (2004). “*Oidiopsis taurica* nuevo patógeno de pimiento (*Capsicum annum*) y ají (*Capsicum frutescens*) en Mendoza (Argentina)”. *Rev. FCA UNcuyo*, Vol. 36 No. 1, pp. 87-100.
- Tamayo, P.J. and Jaramillo, J.E. (2006). *Enfermedades del Tomate, Pimentón, Ají y Berenjena en Colombia Guía para su Diagnóstico y Manejo*, Corpoica, centro de investigación Rionegro, Antioquia, Colombia, p. 100.
- Than, P.P., Jeewon, R., Hyde, K.D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O. and Taylor, P.W.J. (2008). “Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in thailand”. *Plant pathology*, Vol. 57 No. 3, pp. 562-572.
- Toro, L.H. (1999). “Enfermedades del ají (*Capsicum annum*, L.) variedad Cayenne, en la zona cafetera central”, *Fitotecnia Universidad de Caldas*, Vol. 29, p. 2.
- Velasquez, V.R. (1991). *Diagnostico fitopatológico del cultivo del chile en Zacatecas*. Resúmenes de investigación 1989, Publicación Especial 6. SARH, INIFAP, CIFAP-Zacatecas. Calera de V.R., Zacatecas, México, p. 153.
- Velasquez, V.R. and Medina, A.M.M. 2003. *La pudrición de la Raíz de Chile (Capsicum annuum) en el Norte-Centro de México*, Folleto científico No. 14. INIFAP, Centro de investigación regional norte-centro, campo experimental Pabellón. Aguascalientes, Aguascalientes, México, p. 26.
- Velásquez-Valle, R. and Amador, M.D. 2007. “Análisis sobre la investigación fitopatológica de chile seco (*Capsicum annum*), realizada por el instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias en los estados de Aguascalientes y Zacatecas, México”. *Revista Mexicana de fitopatología*, Vol. 25 No.1, pp. 80-84.
- Watanabe, T. 1999. *Pictorial atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*, Lewis Publishers, p. 395.